Lehrstuhl für Experimentelle Zahnheilkunde
(Vorstand: Prof. Dr. F. Bramstedt)
an der Universitätsklinik und Poliklinik für
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde Würzburg
Direktor: Professor Dr. R. Naujoks

Einfluß von Aminfluoriden auf das Wachstum und die Polysaccharidsynthese von Plaquestreptokokken

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Friedel Konrad
aus Dettelbach

Würzburg 1967

Lehrstuhl für Experimentelle Zahnheilkunde
(Vorstand: Prof. Dr. F. Bramstedt)
an der Universitätsklinik und Poliklinik für
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde Würzburg
Direktor: Professor Dr. R. Naujoks

Einfluß von Aminfluoriden auf das Wachstum und die Polysaccharidsynthese von Plaquestreptokokken

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Friedel Konrad
aus Dettelbach

Würzburg 1967

Referent : Professor Dr. Fr. Bramstedt

Tag der Promotion : 3. 8. 67

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Meinem verstorbenen Vater

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung und Literaturübersicht	1
a. Kariogenese	1
b. Oral sugar clearance time	2
c. Die Mikroflora des Speichels und der Plaques	4
d. Der Austausch von Stoffwechselprodukten zwischen Speichel und Plaques	5
e. Kariesprophylaktische Maßnahmen	8
f. Die kariesprotektiven Mechanismen des Fluorids	10
Problemstellung	13
Material und Methoden	14
Ergebnisse	18
Diskussion	30
Zusammenfassung	33
Literaturverzeichnis	I-VIII

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544724_0029

EINLEITUNG UND LITERATURÜBERSICHT

a. Kariogenese

Heute werden von den Autoren übereinstimmend drei Faktoren für die Kariogenese verantwortlich gemacht, niedermolekulare Kohlenhydrate, ihr Kontakt mit der Zahnoberfläche und Mikroorganismen.

Auf den Zusammenhang zwischen Ernährung und Zahnkaries machte schon PEDERSEN (63) 1939 an Hand von Untersuchungen an primitiven und urbanisierten Eskimos in Grönland aufmerksam. Die in Julianehaab an der leichter zugänglichen Westküste Grönlands lebenden Eskimos, deren Zuckerverbrauch sich dem der Dänen angeglichen hatte, zeigten einen Kariesbefall von 90 % aller Individuen. In den kleineren Orten der Westküste belief sich die Erkrankung auf etwa 45 %. Eine ähnliche Höhe erreichte die Kariesfrequenz in Angmagssalik, dem größten Ort der schlecht zu erreichenden Ostküste. In den kleineren Orten waren in diesem Teil Grönlands die Eskimos kariesfrei.

TOVERUD (72, 73), der während des 2. Weltkrieges und den beiden Nachkriegsjahren 1946-47 ein Absinken der Karies um 40-50 % an norwegischen Kindern beobachtete, erklärt dies damit, daß von den Kindern während der Zeit des Krieges mit der Nahrung weniger raffinierte Kohlenhydrate aufgenommen wurden. In den dem Kriege folgenden Jahren stieg die Kariesfrequenz parallel zum erhöhten Zuckerkonsum wiederum an.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam MAC GREGOR (52) 1963 bei seinen Untersuchungen in Ghana. Durch die Berührung der Einwohner Ghanas mit der europäischen Zivilisation, dem erhöhten Import von Süssigkeiten und dem damit zusammenhängenden Anstieg des Zuckerkonsums kam es zu einer beträchtlichen Vermehrung der Karies.

In den Vipeholm-Untersuchungen konnten GUSTAFSON und Mitarbeiter (33, 34) experimentell am Menschen nachweisen, daß mit ver-

mehrtem Zuckerkonsum, ein Ansteigen der Karies einhergeht. Die Aufnahme von Zuckern, vor allem in klebriger Form und zwischen den Mahlzeiten, erwies sich als besonders kariesfördernd. Die Zucker bleiben auf diese Weise länger in der Mundhöhle und auf der Zahnoberfläche.

KAMRIN (42) konnte den Einfluß der Nahrung auf die Kariogenese im Tierexperiment bestätigen. Es gelang ihm, aus einem deutlich kariesresistenten Rattenstamm innerhalb von 30-40 Tagen nach Fütterungsbeginn einen kariesanfälligen zu züchten, indem er zur Grundnahrung 50 Vol % Dextrose gab.

KITE et al. (45) bestätigten mit ihren Rattenversuchen, daß ohne unmittelbaren Kontakt der Nahrung mit der Zahnoberfläche sich Karies nicht entwickeln konnte. Die Ratten,die mittels einer Magensonde gefüttert wurden, blieben im Gegensatz zu der normal ernährten Kontrollgruppe kariesfrei.

Auf die Rolle der Mikroorganismen bei der Entstehung von Karies weisen ORLAND et al. (63,, 64) auf Grund ihrer Tierversuche hin. Ratten, die vollkommen steril aufgezogen wurden, blieben selbst von mikroskopisch nachweisbaren Defekten frei. Wurden jedoch Bakterien, größtenteils aus einem Enterokokkusstamm bestehend, überimpft, entwickelte sich an den Molaren der Ratten kariöse Stellen. Ebenso kann durch Beimpfen eines kariesinaktiven Hamsterstammes mit isolierten kariogenen Streptokokkenstämmen Karies erzeugt werden, wie FITZGERALD und KEYES (25) es mit ihren Versuchen beweisen konnten.

b. Oral sugar clearance time

LUNDQVIST (50) versteht unter "oral sugar clearance time" die Verweildauer der einzelnen Zucker im Speichel. Entsprechend ihrer Clearance werden die Kohlenhydrate als mehr oder weniger kariesfördernd eingestuft. Je länger ihre Verweildauer in der Mundhöhle ist,

umso kariogener wirken sie. Die "oral sugar clearance" wird in hohem Maße von der Fermentaktivität des Speichels der einzelnen Individuen bestimmt. Es bestehen, wie BRAMSTEDT, KRÖNCKE, NAUJOKS und Mitarbeiter in in vitro Untersuchungen zeigen konnten, signifikante Unterschiede zwischen Kariesanfälligen und Kariesresistenten. Die Amylase, es handelt sich hierbei um ein vornehmlich von der Parotis sezerniertes Ferment, ist bei beiden annähernd gleich aktiv. Mit ihren Untersuchungen schlossen KRÖNCKE und LÄSSIG (49) eine Beziehung zwischen Karies und Amylaseaktivität aus. Dagegen sind die Aktivitäten der Saccharase, Maltase, Hexokinase, Aldolase und Triosephosphatdehydrogenase bei den Kariesanfälligen im Mittel auf ein Drittel reduziert. Die Sauerstoffaufnahme des Speichels ist im gleichen Verhältnis verringert (8, 10, 11, 15, 17). Diese verringerte Verbrennungsfähigkeit wird zum größten Teil auf den Mangel an anorganischem Phosphat und organischen Phosphatacceptoren zurückgeführt. BRÁMSTEDT und Mitarbeiter (17) konnten durch Zugabe von anorganischem und organischem Phosphat, sowie bestimmten Co-faktoren in vitro die Sauerstoffaufnahme des Nüchternspeichels Kariesanfälliger beträchtlich vermehren. Im Speichel Kariesresistenter konnte im Gegensatz dazu nur eine geringe Steigerung der Sauerstoffaufnahme erreicht werden. Aus dem zellfreien Überstand des Speichels konnte von der gleichen Arbeitsgruppe ein Faktor isoliert werden, der den anaeroben Kohlenhydratabbau von Candida albicans aktiviert. Er ist säure-, alkali- und hitzestabil, dialysabel, sowie ultrafiltrierbar. Dieses "aktivierende Prinzip" beschleunigt den Abbau der Glukose durch Streptokokkus salivarius und Candida albicans, aber nicht den durch die Lactobazillen (7, 59).

In der Globulinfraktion des Speichels Kariesresistenter entdeckte GREEN (31) ein Protein mit bakteriolytischen Eigenschaften. Wahrscheinlich wird der Teilungsprozeß bei den Lactobazillen und den Streptokokken dadurch gestört. Der Nüchternspeichel Kariesanfälliger

besitzt, wie B. RANKE und E. RANKE ermittelten (68), mit hoher Signifikanz einen geringeren Protein- und Sedimentgehalt und infolgedessen auch einen verringerten Anteil an Wirkstoffprotein. EGGERS LURA (22) kam zu entsprechenden Ergebnissen. Er stellte fest, daß wesentliche Unterschiede im Gehalt an oxydierenden Enzymen und Redoxysystemen im Speichel Kariesanfälliger und Kariesresistenter bestanden. Dies führt er auf eine unterschiedliche Mikroflora des Speichels der beiden Gruppen zurück.

c. Die Mikroflora des Speichels und der Plaques

In der Mundhöhle stehen sich im Speichel und in den Plaques zwei verschiedene Lebensbereiche der Mikroorganismen gegenüber. Im Speichel herrschen hauptsächlich aerobe, in den Plaques anaerobe Bedingungen (15). Die Mikroorganismen stammen in der Hauptsache vom hinteren Anteil der Zunge und nicht von den Schleimhäuten und den Plaques (29).

Bei den Kariesanfälligen ist nach Untersuchungen von KRASSE (47) die Mundflora in ihrer prozentualen Zusammensetzung verändert. Die Lactobazillen und Candida albicans sind sowohl im Speichel, als auch in den Belägen stark, die Streptokokken dagegen nur in den Plaques vermehrt. Gleichzeitig ist das Verhältnis der Erreger untereinander zu Gunsten der Streptokokken verschoben. Nicht nur das Verhältnis ist gestört, denn es könnte sich möglicherweise auch um Mutanten dieser Stämme handeln. KEYES (43) folgert aus dem unterschiedlichen Kariesbefall von Ratten und Hamstern, die unter gleichen Bedingungen gehalten wurden, daß sich die Mikroorganismen in den Mundhöhlen der Arten unterschiedlich entwickelt haben könnten. NAUJOKS (59) weist in diesem Zusammenhang darauf hin, daß die verminderte Stoffwechselleistung des Speichels kariesanfälliger Probanden mit einer verminderten Fermentaktivität von mutierten Mikroorganismen erklärt werden könnte.

Die Plaques, deren Bildung ganz unterschiedlich angegeben wird, bestehen zu 70 % aus Bakterien, hauptsächlich aus reinen und fakultativen

Anaerobiern und ganz wenigen Aerobiern (77). Im einzelnen werden von GIBBONS und Mitarbeitern (30) folgende Erreger angegeben: Fakultativ anaerobe Streptokokken 27 %, fakultativ anaerobe Diphtheroide 23 %, anaerobe Diphtheroide 18 %, Peptostroptokokken 13 %, Veilonellen 6 %, Bakteroide 4 %, Fusobakterien 4 %, Neiseria 3 % und Vibrionen 2 %.

Nach WINKLER und BACKER DIRKS (77) ergibt die Ausfällung des Speichelmucoids die Grundlage für die Bildung der Zahnbeläge. Diese Reaktion wäre jedoch erst bei einem pH von 4,0 möglich, einer Wasserstoffionenkonzentration, die zwar in den Plaques, aber nicht in der Mundhöhle vorkommt (24). ERICSSON und KRASSE (24, 46) deuten deshalb mikroskopische und elektronenmikroskopische Bilder von den Belägen dahingehend, daß die Bakterien die Mucopolysaccharide selbst bilden.

Auch in der Zusammensetzung der Plaqueflora zeigen die Kariesanfälligen wesentliche Unterschiede im Vergleich zu den Kariesresistenten. Der Anteil an Mikroorganismen, die intrazellulär Polysaccharide bilden können, ist in den Plaques Kariesanfälliger signifikant höher (26). Wird der Zuckergehalt der Nahrung erniedrigt, vermindert sich die Zahl der polysaccharidbildenden Mikroorganismen in den Belägen ganz erheblich (27, 28). Die wichtigsten Polysaccharidbildner sind Streptokokken, vor allem aus der Viridansgruppe, Neisserien, Diphtheroide und Fusobakterien (39). GIBBONS (26) beziffert die Zahl dieser Plaquebakterien bei den Kariesanfälligen auf 54 %, bei den Kariesresistenten auf 29 %. BRAMSTEDT (6) konnte zusätzlich einen strukturellen Unterschied des glykogenähnlichen Polysaccharids, das nach der Pflügerschen Methode isoliert wurde, bei Kariesanfälligen und Kariesresistenten ermitteln. Das Polysaccharid hat bei ersteren Rhamnose im Molekül, bei letzteren nicht.

d. Der Austausch von Stoffwechselprodukten zwischen Speichel und Plaques

In Experimenten an Ratten konnte HANSON (35) durch Entfernen der Speicheldrüsen nachweisen, daß sich die Mikroorganismen der Mundhöhle

stark vermehrten und ein Anstieg der Karies beobachtet wurde. Gleichzeitig kam es zu einer Atrophie der Gingiva, zu einer Freilegung der Zahnhälse, dem sich ein Abbau des Zementes anschloß. Zu einem ähnlichen Zustand in der Mundhöhle kann es beim Menschen kommen, wenn er zum Beispiel an Xerostomie erkrankt ist. Die Sekretionsgeschwindigkeit des Speichels hat einen wesentlichen Einfluß auf die Selbstreinigung der Zähne und damit auf die Entfernung der Kohlenhydrate von den Zahnoberflächen. Die Viskosität des Speichels andererseits ist umgekehrt proportional der Strömungs- und Diffusionsgeschwindigkeit zwischen Speichel und Plaque (24). Für den Schutz der Zähne ist deshalb die Sekretion von geringen Mengen zähflüssigen Speichels als besonders ungünstig anzusehen.

Das Angebot von gärungsfähigen Kohlenhydraten an die Plaques ist von der Clearancefähigkeit des Speichels abhängig. Je länger die Zucker im Speichel verbleiben, desto länger stehen sie den Mikroorganismen der Zahnbeläge zur Energiegewinnung zur Verfügung. Es kommt dadurch zu einer vermehrten Bildung von Säuren. Ein Überangebot an Zuckern führt, besonders in Zeiten verlangsamten Wachstums der Bakterien, zu einer intrazellulären Speicherung in Form von Polysacchariden (6, 27, 28, 30, 59).

Nach HUH und Mitarbeitern (40) muß an der Oberfläche der Plaques eine hohe Zuckerkonzentration vorhanden sein, wenn genügend große Mengen hineindiffundieren sollen. Es wurde festgestellt, daß das Maß des Austausches ungefähr der Konzentration proportional geht.

WINKLER und BACKER DIRKS (77) sind anderer Meinung. Der Zucker soll leicht in die Beläge hineindiffundieren und wird dort von den Bakterien vergoren. Das pH sinkt innerhalb weniger Minuten unter pH 5, 0 ab. Der Abtransport der entstandenen Säuren aus den Belägen wird durch hohen Speichelfluß gefördert.

NEFF (61) führte bei seinen Untersuchungen fortlaufende Messungen des pH-Wertes der Plaques direkt an der Zahnoberfläche durch. Er verglich

dabei die Änderungen des pH nach Verabreichung von Lösungen verschiedener Kohlenhydrate, sowie den wässrigen Extrakten aus handelsüblichem Schwarzbrot und einem gesüßten Vollkornbrot ("Pausebrötli") mit dem Verlauf des pH nach Gabe einer 0, 9 %igen Saccharoselösung. Bei dem Vollkornbrot fiel das pH innerhalb von 5-10 Minuten auf 4, 0 - 4, 3 ab, bei dem gewöhnlichen Brot jedoch nicht unter 5, 1. Saccharose, Glukose und Fruktose zeigten etwa den gleichen Abfall des pH-Wertes. Aus Mannit und Sorbit erfolgte keine Säurebildung.

Nach ENGLANDER und Mitarbeiter (23) wird das pH der Beläge von vier Faktoren beeinflußt. Das Verhältnis der Zusammensetzung der einzelnen Säuren, das Ausmaß der Säureneutralisation durch die Plaques und den Speichel, das Verhältnis der Säurediffusion von den Plaques nach außen und die Menge der durch die Mikroorganismen gebildeten Milchsäure bestimmen das Milieu in den Belägen. Die Plaques besitzen wahrscheinlich eine beträchtliche Pufferkapazität. Trotzdem kann der pH-Wert bis 4, 0 absinken (61). Die Anwesenheit des Speichels ist unbedingt notwendig, damit das pH nicht unter 5, 5 fällt. Bei freiem Zutritt des Speichels zu den Belägen kommt es nach 10 Minuten zu einer Neutralisation der Säuren. Dies deutet darauf hin, daß ein Teil der Säuren aus den Plaques hinausdiffundiert, ein Teil aber an Ort und Stelle neutralisiert wird. Die Höhe des pH-Wertes wird, wie MAHLER und MANLY berichten (52), hauptsächlich durch die Säurebildung der Streptokokken, die immer in großer Zahl in den Belägen vorkommen, bestimmt.

Der pH-Wert ist aber auch, wie ERICSSON (24) schreibt, von dem Kalziumphosphatgehalt des Speichels abhängig. Im neutralen Bereich ist der Speichel mit Kalziumphosphat gesättigt, sinkt das pH ab, zum Beispiel durch verstärkte Säurebildung in den Plaques, ist der Speichel nicht mehr gesättigt. Es erfolgt nun ein Angriff auf das Kalziumphosphat des Schmelzes. Der kritische Wert des pH liegt bei den meisten Speichelproben zwischen 6, 5 und 5, 5. Solange also an der Schmelzoberfläche

der Speichel mit Kalziumphosphat gesättigt ist, kommt es nicht zu einem meßbaren Angriff auf den Schmelzapatit. Bei vermindertem Speichelfluß kann es jedoch zu einem Absinken des pH über längere Zeit an der Zahnoberfläche und damit zu einer Auflösung von Schmelzteilen kommen.

Der Polysaccharidbildung bestimmter Plaquebakterien wird von verschiedenen Autoren eine große Bedeutung in der Kariesgenese zugemessen. Bei gesteigertem Zuckerangebot während des Tages synthetisieren die Mikroorganismen vermehrt Polysaccharide. Wenn durch den Speichel keine Zucker mehr angeboten werden, können jene für die Energiegewinnung abgebaut werden. Die Dauer des Substratangebotes wird zusätzlich von einer stark verlängerten "oral sugar clearance time" begünstigt, wie sie bei den Kariesaktiven herrscht. Während der Nachtruhe werden die Polysaccharide zu Säuren abgebaut. Diese können dann über längere Zeit im Schutze der Plaques an der Schmelzoberfläche der Zähne einwirken, zumal die verschiedenen Aufgaben des Speichels über diesen Zeitraum fast gänzlich ausfallen.

e. Kariesprophylaktische Maßnahmen

Nachdem etwa 99 % der erwachsenen Menschen in den zivilisierten Ländern an Karies erkrankt sind und in den sogenannten Entwicklungsländern in naher Zukunft mit einer ähnlichen Verbreitung zu rechnen ist, müssen alle Möglichkeiten, die einen geeigneten Schutz bieten, zur Prophylaxe herangezogen werden.

Nach KEYES (44) ist es möglich, die Karies einzudämmen, wenn einer der drei oben erwähnten Faktoren auf ein apathogenes Maß reduziert wird. Theoretisch betrachtet, wäre es am einfachsten, die Ernährung entsprechend umzustellen. Die Zeitdauer des Kontaktes der Nahrung mit der Zahnoberfläche und die dadurch begünstigte Plaquebildung kann durch eine sorgfältige Mundhygiene reduziert werden. Eine weitere Möglichkeit der Kariesprophylaxe würde darin bestehen, den Stoff-

wechsel der Mikroorganismen der Mundhöhle in bestimmten Stufen zu hemmen, beziehungsweise solche Prozesse, die die Bildung von Säuren oder Polysacchariden verhindern, zu fördern. KRASSE (46) weist in diesem Zusammenhang auf die Möglichkeit hin, daß sich Bakterien gegenseitig in ihrer Entwicklung hemmen können (Prinzip des bakteriellen Antagonismus). Der Bazillus brevis, von dem auf Grund von in vitro Untersuchungen bekannt ist, daß er das Wachstum der säurebildenden Mikroorganismen hemmt, wurde in die menschliche Mundhöhle überimpft. Es kam zu einer 50 %igen Kariesreduktion im Vergleich zu den Kontrollgruppen.

Viel bessere Aussichten auf Erfolg verspricht die Fluorprophylaxe, wie sie schon über längere Zeit in Amerika angewandt wird. Die Fluoride können in verschiedenen Verabreichungsformen zur Anwendung kommen. In Anlehnung an die positiven Erfahrungen, die in endemischen Fluorgebieten gesammelt wurden, wird von den meisten Autoren eine Fluoridierung des Trinkwassers vorgeschlagen.

Auf Grund vergleichender Untersuchungen in Gebieten, in denen das Trinkwasser 1 ppm Fluorid enthielt, beziehungsweise arm an Fluoriden war, schlägt DEAN (20) vor, das Trinkwasser mit 1 ppm Fluorid pro Liter zu versetzen. Er erzielte auf diese Weise eine Kariesreduktion von 60-65 %, ein Ergebnis, das mit dem der endemischen Fluorgebiete völlig übereinstimmt.

Bei Vorkommen von Dentalfluorosen sollte der Fluoridgehalt entsprechend reduziert werden (38, 67). BACKER DIRKS und Mitarbeiter (4) fanden bei ihren Untersuchungen in Holland ebenfalls einen Rückgang der Karies um etwa 60 %. Sie stellten fest, daß die kariesvermindernde Wirkung an den Zähnen von den leichter zugängigen buccalen, occlusalen und oralen über die approximalen Flächen bis zu den Fissuren hin abnimmt.

Die tägliche Einnahme von Tabletten, die eine entsprechende Menge Fluorid enthalten, führt zu einer 65 %igen Kariesreduktion. Der Fluoridgehalt der bleibenden Zähne vergrößert sich, je länger die Tabletten eingenommen werden (3).

Bei örtlicher Anwendung von NaF-Lösung durch Touchierung konnten von HEWAT und RICE (37) eine Verminderung der Karies um 36, 4 % beobachtet werden. Bei 5-13 jährigen Probanden wurden wöchentlich zweimal, insgesamt zwölfmal eine Fluoridtouchierung eines oberen und unteren Quadranten durchgeführt. Die nicht behandelte Seite diente als Kontrolle.

Bei Anwendung von fluoridhaltigen Zahnpasten, die zum Beispiel SnF_2 enthielen, wird nach einem halben Jahr eine Verminderung der Karies um 22-38 % beobachtet (57). Durch zusätzliche SnF_2Touchierung konnte MUHLER (56) diese auf 65 % steigern. Dies entspricht etwa den Ergebnissen, die mit der Trinkwasserfluoridierung erreicht werden. Bei klinischen Untersuchungen mit aminfluoridhaltigen Zahnpasten wurde von MARTHALER (53, 54) festgestellt, daß nach einem Zeitraum von 6 Monaten noch keine Kariesreduktion zu finden war. Nach weiteren 6 Monaten kam es dann zu einer signifikanten Verminderung der Karies. Im Gegensatz dazu setzt die Wirkung der Zinnfluoridpasten sofort ein, läßt aber nach einem Halbjahr stark nach.

Außerdem schützen die Aminfluoridpasten selbst bei einem pH von 4, 0 und 5, 5 voll wirksam die Zähne vor einer Demineralisation durch die Säuren (60).

f. Die kariesprotektiven Mechanismen des Fluorids.

Das Fluorid kann auf zwei völlig voneinander getrennten Wegen hemmend in das Kariesgeschehen eingreifen (41). Wird das Fluorid im Trinkwasser oder mit Tabletten verabreicht, kommt es während der postnatalen Zahnentwicklung auf endogenem Wege zur Bildung von Fluorapatit in

den äußeren Schmelzschichten der Zähne. Das Vorhandensein von Fluorapatit, der durch Substitution aus Hydroxylapatit entsteht, setzt die Löslichkeit des Schmelzes stark herab (41) (Schmelzlöslichkeits-Theorie).

Nach TRAUTZ und ZAPANTA (74) werden bei örtlicher Fluorapplikation Karbonat und sekundäres Phosphat, die beide in schwacher Säure leicht löslich sind, in das schlecht lösliche Kalziumfluorid umgewandelt. Auf diese Weise wird die sich selbst beschleunigende Wirkung des ersten Säureangriffs auf den Schmelz, das heißt die durch die Demineralisation verursachte Erweiterung der Diffusionswege im Schmelz, entscheidend verhindert. Die Aufnahme von Fluorid in den Schmelz kann zusätzlich gesteigert werden, wenn angesäuertes Fluorid in einem Phosphatpuffer angewandt wird (5). Wenn die Schmelzoberfläche über den Speichel positiv beeinflußt werden soll, ist eine Menge von 2,0 ppm Fluorid darin nötig, um die Schmelzlöslichkeit signifikant zu reduzieren (18).

Auf enzymatischem Wege kann das Fluorid in einer Konzentration von 1-2 ppm die Säureproduktion des Speichels schon feststellbar, bei 5-10 ppm signifikant hemmen.

BRAMSTEDT, KRÖNCKE und NAUJOKS (12, 13, 14) konnten durch Untersuchungen in vitro im Nüchternspeichel Kariesanfälliger und -resistenter feststellen, daß es bei einer Fluorkonzentration von 10^{-2} M zu einer signifikanten Hemmung des aeroben und anaeroben Glukoseabbaues kommt. Die Gärung wird beim Kariesanfälligen stärker beeinflußt, der gestörte aerobe Abbau über den Zitronensäurezyklus kann dadurch entlastet werden. Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-6} M erhöhen den Zuckerabbau beträchtlich. Im Speichel von Kariesanfälligen steigt dieser um 34 %. Der anaerobe Glukoseabbau der Streptokokken und der Lactobazillen wird ebenfalls aktiviert. Die "oral sugar clearance time", die beim Kariesanfälligen stark verzögert ist, kann somit der der Kariesresistenten zum Teil angeglichen werden.

Bei Versuchen in vitro zeigen die Aminfluoride wachstumshemmende Eigenschaften (58). BRAMSTEDT und BANDILLA (9) stellten ferner fest, daß bei einer Konzentration von 10^{-5} M die organischen Fluoride die Säurebildung nahezu völlig, die Polysaccharidbildung dagegen nur teilweise hemmen.

KRÖNCKE (48) stellte bei seinen in vivo Untersuchungen an Probanden mit einem Durchschnittsalter von 24 Jahren fest, daß nach vierwöchiger Anwendung von aminfluoirdhaltiger Zahnpaste die Schmelzlöslichkeit der Zähne vermindert wird. Gleichzeitig stieg die Pufferkapazität des Speichels leicht an. Der Sauerstoffverbrauch des Speichels, der den Maßstab für den aeroben Kohlenhydratabbau des Gesamtspeichels darstellt, bleibt dagegen im wesentlichen unverändert. Dies liegt wahrscheinlich daran, weil das Aminfluorid bei der Anwendung in einer Zahnpasta zu kurz in der Mundhöhle verweilt. Die ebenso beobachtete Verminderung der Säurebildung, die auch bei der Kontrollgruppe vorhanden war, kam sicherlich durch die bessere Mundpflege während der Versuchsdauer zustande.

In den Plaques ist eine enzymatische Wirkung durch Fluoride ebenfalls möglich, wie HARDWICK (36) an Hand von frischem Plaquematerial feststellte. Er konnte in den Belägen mittels radioaktiv markierten Fluoriden einen Fluoridgehalt von 30 bis 60 ppm nachweisen. Werte um 6 ppm wurden gefunden, wenn größere Mengen Speichel im Plaquematerial waren.

PROBLEMSTELLUNG

Angeregt durch die Erfahrungen, die in den endemischen Fluorgebieten Amerikas gesammelt wurden, hat die Kariesforschung ihren kräftisten Impuls für die Kariesprophylaxe erfahren. Die Aushärtung des Schmelzes auf endogenem und exogenem Wege durch das Fluorion ist allgemein anerkannt; auch die enzymatisch karieshemmende Wirkung ist unbestritten. Beide Mechanismen bewirken zusammen den kariesreduzierenden Effekt des Fluors.

Von sehr vielen Autoren wird der extra- und intrazellulären Polysaccharidsynthese in den Plaques übereinstimmend eine zentrale Stellung in der Kariesgenese eingeräumt. Bei Kariesanfälligen sind die Plaquebakterien, die bei einem Überangebot von niedermolekularen Zuckern Polysaccharide bilden und diese intrazellulär speichern, von 26 auf 54 % vermehrt (26).

Es erhebt sich deshalb die Frage, ob diese Synthese durch Fluoride gehemmt werden kann. Durch Verbesserung der Zuckerclearance ist es, wie es BRAMSTEDT und Mitarbeiter (17, 12, 13, 14) in vitro als möglich nachgewiesen haben, bei den Kariesanfälligen denkbar. Inwieweit die Polysaccharidbildung in den Plaques direkt beeinflußt werden kann, müßte noch untersucht werden. Aus diesem Grunde wurde das Wachstum und die Polysaccharidbildung des aus Plaques isolierten Streptokokkenstammes unter anaeroben Bedingungen in vitro untersucht.

MATERIAL UND METHODEN

Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden mit dem Streptokokkenstamm 200 durchgeführt. Dieser Stamm entspricht dem Streptococcus mitis Ahrens 18, Typ V, der im Bakteriologischen Laboratorium der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Universität Hamburg aus Zahnplaques eines kariesanfälligen Probanden isoliert wurde. Die Mikroorganismen wurden täglich mit einer Stichkultur in einen festen Nährboden (14, 5 gr Thioglycollate Broth Difco und 6 gr Agar Difco in 500 ml aqua destillata) überimpft und 24 Stunden bei 37 °C im Brutschrank gehalten. Von dieser Kultur wurden die Erreger in eine flüssige Vorkultur, die aus 15 ml Thioglycollatbouillon bestand, eingeimpft und 10 Stunden bei 37 °C bebrütet.

Aus dieser Vorkultur wurde bei den Wachstumsversuchen 1 ml steril entnommen und mit steriler physiologischer Kochsalzlösung (0, 85 %ig) 1 : 10 verdünnt. Mit dieser so gewonnenen Vorkultur wurde jeweils 1 ml in eine Hauptkultur inokuliert. Die Hauptkulturen wurden anschließend eine Minute mit einem Stickstoff-Kohlendioxyd-Gemisch (95 % N_2, 5 % CO_2) begast und 16 bzw. 22 Stunden bei 37 °C bebrütet. In Abständen von 2 Stunden wurden aus den einzelnen Ansätzen 0, 5 ml steril entnommen und mit physiologischer Kochsalzlösung 1 : 20 verdünnt. Der Trübungsgrad der einzelnen Verdünnungen wurde nephelometrisch im Fotometer "Eppendorf" bei einer Wellenlänge von 578 mμ und einer Schichtdicke von 2 cm gemessen. Die Messungen wurden alle gegen einen Blindwert von reiner Thioglycollatlösung, die im gleichen Verhältnis verdünnt worden war, durchgeführt.

Der Ansatz der Hauptkultur war, wie folgt:

80 ml N. I. H. Thioglycollate Broth-Bouillon
0, 8 ml 50 %ige Saccharose- bzw. Glukoselösung
1 ml 1:10 verdünnte Bakteriensuspension der Vorkultur

Diese Zusammensetzung der Hauptkultur wurde in keinem Versuch geändert. Der Zusatz von Aminfluorid 242 wurde der gewünschten Konzentration entsprechend geändert. Im einzelnen wurde zugegeben:

0, 8 ml 10^{-3} M heiß sterilisierte Lösung von Aminf. 242
0, 8 ml 10^{-3} M steril filtrierte Lösung von Aminf. 242
0, 8 ml 10^{-4} M heiß sterilisierte Lösung von Aminf. 242
0, 8 ml $5x10^{-4}$ M heiß sterilisierte Lösung von Aminf. 242

Die Heißsterilisation der einzelnen Lösungen des Aminfluorids 242 wurde im Autoklaven bei etwa 124°C (1 Atmosphäre Überdruck) und einem Zeitraum von drei Viertelstunden durchgeführt. Die Kaltsterilisation erfolgte mittels des Bakterienfilters 3G5 m. Die Glasfritte mit dem Bakterienfilter und eine dazu passende Saugflasche wurden zunächst im Autoklaven sterilisiert und anschließend die Aminfluoridlösung mit einer Wasserstrahlpumpe in die sterile Saugflasche abfiltriert. Die Konzentrationen des Aminfluorids 242 waren in den Hauptkulturen folgende:
a) 10^{-5} M heiß sterilisiert, b) steril filtriert, c) $5x10^{-6}$ und
d) 10^{-6} M heiß sterilisiert.

Bei den Aminfluoriden handelt es sich um Additionsverbindungen von Flußsäure und Kohlenwasserstoffaminen. Als besonders günstig für die Kariesprophylaxe haben sich die Fluoride von Mono- und Diaminen der Kohlenwasserstoffe mit 14-18 C-Atomen erwiesen. Das Aminfluorid 242 ist ein Cetylaminhydrofluorid mit der Formel:

$$CH_3\text{-}(CH_2)_{15}\text{-}NH_2^+HF^-$$

Es wurden Versuche mit verschiedenen Aminfluoridkonzentrationen unternommen, um deren Einfluß auf die Polysaccharidsynthese der Mikroorganismen zu untersuchen. Von der flüssigen Vorkultur wurde jeweils 1 ml Bakteriensuspension in 80 ml Thioglycollatbouillon überimpft und unter anaeroben Bedingungen bei 37°C 10 Stunden bebrütet. Aus dieser Kultur wurden die Bakterien für die Hauptkulturen entnommen.

Der Ansatz der Hauptkultur war, wie folgt:

2000 ml N. I. H. Thioglycollate Broth-Bouillon
20 ml 50 %ige Saccharoselösung
20 ml Bakteriensuspension, eingestellt auf eine Extinktion von $E_{578\ \mu m} = 0,100$

Der Zusatz des Aminfluorids 242 wurde der gewünschten Konzentration ensprechend variiert. Es wurden folgende Konzentrationen hinzugegeben.

Ansatz 1) 20 ml 10^{-2} M heiß sterilisierte Lösung von Aminf. 242
Ansatz 2) 20 ml 10^{-3} M heiß sterilisierte Lösung von Aminf. 242
Ansatz 3) 20 ml 10^{-3} M steril filtrierte Lösung von Aminf. 242

Die Aminfluoridkonzentrationen betrugen folglich in den Ansätzen 1 und 2 10^{-4} und 10^{-5} M, im Ansatz 3 10^{-4} M.

Die Kulturen wurden dann mit einem Stickstoff-Kohlendioxyd-Gasgemisch (95 % N_2, 5 % CO_2) eine Minute begast und bei 37°C 16 Stunden bebrütet. Anschließend wurde die Thioglycollatbouillon in der MSE-Überlaufzentrifuge bei 6000 U/Min. abzentrifugiert. Die Bakterien, die anschließend noch zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und bei 4000 U/Min. zentrifugiert wurden, wurden auf entfettete ausgewogene Uhrgläser gebracht und 2 Stunden bei 90°C im Vakuumtrockenschrank getrocknet. Bevor die getrockneten Bakterien zur Isolierung des Polysaccharids nach der Pflüger'schen Methode weiterverarbeitet wurden, wurde das Trockengewicht der Bakterien

ermittelt, um dieses mit der Menge des gebildeten Polysaccharids vergleichen zu können. Entsprechend dem von Trautner abgewandelten Pflüger' schen Verfahren (66, 75) zur Darstellung von Glykogen, wurden die Bakterien in 30 %iger Kalilauge 30 Minuten im Wasserbad gekocht und anschließend 10 Minuten bei 4000 U/Min. zentrifugiert. Zu dem Zentrifugenüberstand wurde die doppelte Menge 96 %igen Alkohols gegeben und 24 Stunden zum Ausfällen des Polysaccharids in der Kälte aufbewahrt. Im Anschluß daran wurde das Polysaccharid abzentrifugiert, in aqua destillata aufgelöst und erneut mit der doppelten Menge 96 %igen Alkohols ausgefällt. Nach 24 Stunden wurde wiederum 10 Minuten bei 4000 U/Min. zentrifugiert, der Überstand abgegossen und das so gereinigte Polysaccharid im Exsikkator getrocknet. Das getrocknete Polysaccharid wurde dann gewogen und mit dem Bakterientrockengewicht verglichen.

Die Natur des aus dem Stamm 200 isolierten Polysaccharids wurde von BRAMSTEDT, NAUJOKS und BENEDIKT (16) an Hand ihrer Untersuchungen weitgehend aufgeklärt. Sie stellten fest, daß das Polysaccharid bei der Anfärbung mit Jod-Jodkaliumlösung im Beckmann Spektrophotometer D B ein mehr dem Glykogen-Jod- als dem Stärke-Jod-Komplex entsprechenden Kurvenverlauf zeigte. Die maximale Absorption des Jod-Polysaccharid-Komplexes lag mit 485-500 nm näher an der des Jod-Glykogen-Komplexes, dessen Maximum bei 420 nm liegt, als an der des Stärke-Jod-Komplexes, dessen Maximum zwischen 620 und 650 nm liegt. Bei der papierchromatographischen Analyse des Polysaccharids wurden Glukose und Rhamnose als Hauptbestandteile desselben und in geringen Mengen Glukosamin und Arabinose gefunden. Das aus Plaquestreptokokken kariesinaktiver Personen und Hamstern isolierte Polysaccharid zeigte im Gegensatz dazu keine Rhamnose im Molekül.

ERGEBNISSE

Das Wachstum des Streptokokkenstammes 200 wird in vitro durch die Zugabe von Aminfluorid 242 in verschiedenen Konzentrationen beeinflußt.

Bei einer Konzentration von 10^{-4} M zeigte sich selbst nach einer Inkubationszeit von 34 Stunden kein meßbares Wachstum. (Tab. I). Nach 16 Stunden zeigte sich bei der Konzentration von 10^{-5} M ein leichtes Wachstum, wenn das Aminfluorid heiß sterilisiert worden war. Nach 22 Stunden Bebrütungszeit war das Wachstum mit und ohne Fluoridzusatz gleich. Zum Unterschied dazu war das Wachstum, wenn das Aminfluorid steril filtriert worden war, deutlich verstärkt (Tab. II, Abb. I). Bei den Konzentrationen von 10^{-6} und $5x10^{-6}$ M war das Wachstum bis zu 14 Stunden zunächst leicht verzögert, ab 16 Stunden verlief es wie bei Zugabe von 10^{-5} M steril filtrierten Aminfluorid (Tab. III und Abb. II). Bei einem Zusatz von Saccharose beziehungsweise Glukose zur Thioglycollatbouillon wuchsen die Ansätze mit Saccharose wesentlich besser (Tab. II, IV und Abb. I, III).

Das Wachstum der Bakterien war bei den Konzentrationen von 10^{-4} und 10^{-5} M Aminfluorid 242 (heiß sterilisiert) nach einer Inkubationszeit von 16 Stunden unzureichend, um daraus Polysaccharide isolieren zu können. Bei einer Konzentration von 10^{-5} M Aminfluorid 242 (steril filtriert) wurde im Vergleich zu dem parallel verlaufenden Versuch ohne Fluoridzusatz aus den Bakterien vermehrt Polysaccharid isoliert (Tab. V und Abb. IV).

Das Bakterientrockengewicht entsprechender Versuche mit und ohne Zusatz von 10^{-5} M Aminfluorid 242 (steril filtriert) und die Trockengewichte der daraus isolierten Polysaccharide wurden zueinander in Beziehung gesetzt und jeweils der Mittelwert daraus berechnet. Der Mittelwert der aus den Bakterientrockengewichten mit und ohne Zusatz

von Aminfluorid 242 10^{-5} M (steril filtriert) gewonnenen Verhältnisse beträgt 1,542, der aus den Verhältnissen der Trockengewichte der Polysaccharide errechnete 1,526 (Tab. VI und Abb. IV). Da das Trockengewicht der Bakterien dem Wachstum entspricht, zeigt das Übereinstimmen der beiden Mittelwerte, daß die Polysaccharidbildung der Bakterien von dem Wachstum derselben abhängig ist. Wachsen die Bakterien besser, zum Beispiel unter dem Einfluß des Aminfluorids in der Konzentration 10^{-5} M (steril filtriert), so verstärkt sich gleichzeitig ihre Polysaccharidsynthese. Das Aminfluorid 242 kann seiner Konzentration entsprechend das Wachstum des Streptokokkenstammes 200 und damit dessen Polysaccharidbildung hemmend beziehungsweise fördernd beeinflussen.

Tabelle I:

Der Einfluß des Aminfluorids 242 auf das Wachstum des Streptokokkenstammes 200 unter anaeroben Bedingungen bei einer Konzentration von 10^{-4} M. Das Wachstum wurde nephelometrisch im Fotometer "Eppendorf" bei einer Wellenlänge von 578 mμ und einer Schichtdicke von 2 cm gemessen.

Bebrütungs-zeit	ohne Zusatz von 242 a	b	mit Zusatz von 242 c	10^{-4} M d
8 Std.	0,008	0,009	0,000	0,000
10 Std.	0,020	0,022	0,000	0,000
12 Std.	0,068	0,072	0,000	0,000
14 Std.	0,096	0,112	0,000	0,000
16 Std.	0,098	0,110	0,000	0,000
18 Std.	0,100	0,110	0,000	0,000
20 Std.	0,097	0,112	0,000	0,000
22 Std.	0,097	0,110	0,000	0,000
24 Std.	0,097	0,112	0,000	0,000
34 Std.	nicht gemessen		0,003	0,003

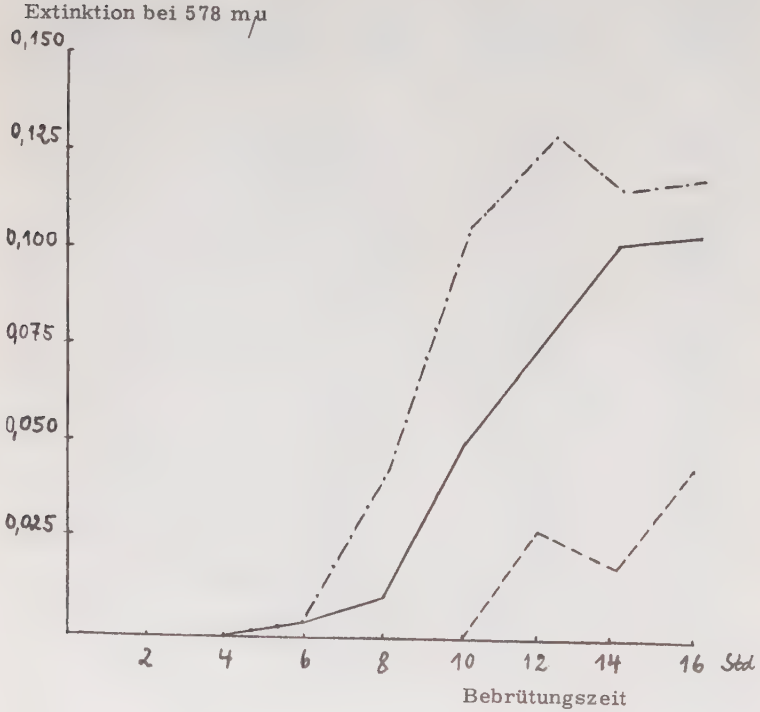
Tabelle II:

Der Einfluß des Aminfluorids 242 auf das Wachstum des Streptokokkenstammes 200 unter anaeroben Bedingungen bei den Konzentrationen 10^{-5} M heiß sterilisiert und steril filtriert. Die Erstellung der Wachstumskurven erfolgte wie bei Tabelle I beschrieben.

Bebrütungszeit	ohne Zusatz von 242	mit 242 heiß ster. 10^{-5} M	mit 242 steril filt. 10^{-5} M
6 Std.	0,005	0,000	0,005
	0,005	0,000	0,005
8 Std.	0,010	0,000	0,041
	0,014	0,000	0,045
10 Std.	0,052	0,000	0,089
	0,054	0,000	0,096
12 St.	0,077	0,048	0,123
	0,075	0,010	0,138
14 Std.	0,105	0,015	0,118
	0,103	0,023	0,115
16 Std.	0,108	0,044	0,120
	0,102	0,046	0,118

Darstellung I:

Wachstumskurven des Streptokokkenstammes 200 unter anaeroben Bedingungen bei Zusatz von Saccharose und von Aminfluorid 242 in den Konzentrationen 10^{-5} M heiß sterilisiert und steril filtriert. Bebrütungszeit 16 Stunden. Temperatur 37°C.



——— ohne Zusatz

-.-.-.- mit 242 10^{-5} M steril filtriert

- - - - mit 242 10^{-5} M heiß sterilisiert

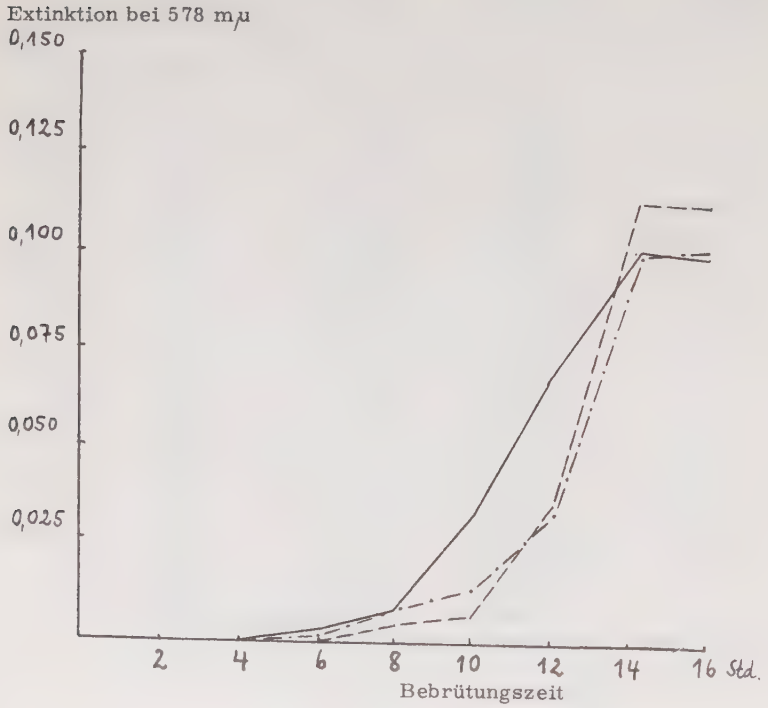
Tabelle III:

Der Einfluß des Aminfluorids 242 auf das Wachstum des Streptokokkenstammes 200 unter anaeroben Bedingungen bei den Konzentrationen $5x10^{-6}$ und 10^{-6} M.

Bebrütungszeit	ohne Zusatz von 242	mit 242 $5x10^{-6}$ M	mit 242 10^{-6} M
6 Std.	0,002	0,000	0,002
	0,005	0,002	0,005
8 Std.	0,008	0,005	0,009
	0,010	0,004	0,009
10 Std.	0,028	0,006	0,012
	0,032	0,009	0,016
12 Std.	0,073	0,024	0,029
	0,078	0,044	0,032
14 Std.	0,100	0,110	0,100
	0,103	0,115	0,105
16 Std.	0,102	0,110	0,103
	0,097	0,110	0,095

Darstellung II:

Wachstumskurven des Streptokokkenstammes 200 unter aneroben Bedingungen bei Zusatz von Saccharose und von Aminfluorid 242 in den Konzentrationen 5×10^{-6} und 10^{-6} M heiß sterilisiert. Bebrütungszeit 16 Stunden, Temperatur 37°C.



——— ohne Zusatz

-.-.- mit 242 5×10^{-6} M

- - - - mit 242 10^{-6} M

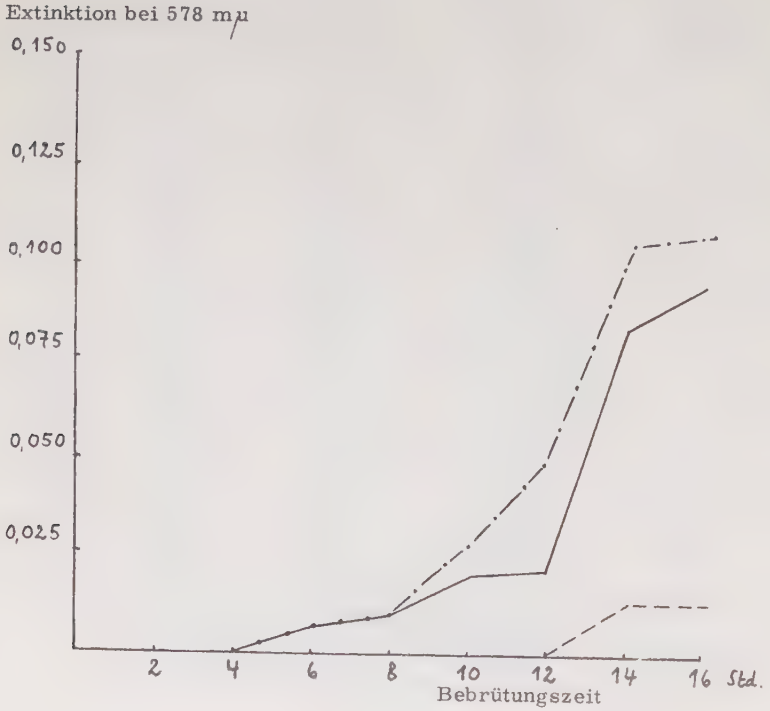
Tabelle IV:

Der Einfluß des Aminfluorids 242 auf das Wachstum des Streptokokkenstammes 200 unter anaeroben Bedingungen bei den Konzentrationen 10^{-5} M (heiß sterilisiert und steril filtriert), sowie dem Zusatz von Glukose anstatt von Saccharose.

Bebrütungszeit	ohne Zusatz von 242	mit 242 heiß ster. 10^{-5} M	mit 242 steril fil. 10^{-5} M
6 Std.	0,007	0,000	0,007
	0,007	0,000	0,006
8 Std.	0,011	0,000	0,006
	0,008	0,000	0,010
10 Std.	0,023	0,000	0,035
	0,020	0,000	0,030
12 Std.	0,020	0,000	0,052
	0,021	0,000	0,046
14 Std.	0,086	0,000	0,104
	0,088	0,027	0,106
16 Std.	0,091	0,000	0,106
	0,095	0,027	0,108

Darstellung III:

Wachstumskurven des Streptokokkenstammes 200 unter anaeroben Bedingungen bei Zusatz von Glukose und von Aminfluorid 242 in den Konzentrationen 10^{-5} M heiß sterilisiert und steril filtriert. Bebrütungszeit 16 Stunden. Temperatur 37°C.



——— ohne Zusatz

-.-.-.- mit 242 10^{-5} M steril filtriert

- - - - - mit 242 10^{-5} M heiß sterilisiert

Tabelle V:

Der Einfluß des Aminfluorids 242 auf die Polysaccharidbildung des Streptokokkenstammes 200 unter anaeroben Bedingungen bei einer Konzentration von 10^{-5} M steril filtriert. Bei den Konzentrationen 10^{-4} und 10^{-5} M heiß sterilisiert zeigte sich unter den gleichen Verhältnissen kein oder nur ganz schwaches Wachstum.

Versuch	ohne Zusatz	mit 242 steril fil. 10^{-5} M
PS I	0,01886 gr	0,05765 gr
PS II	0,04641 gr	0,09682 gr
PS III	0,11588 gr	0,18926 gr
PS IV	0,04121 gr	0,09225 gr
PS V	0,10934 gr	0,11070 gr
PS VI	0,17265 gr	0,24531 gr
PS VII	0,19375 gr	0,29632 gr
PS VIII	0,04346 gr	0,06746 gr
PS IX	0,05682 gr	0,07084 gr
PS X	0,06638 gr	0,06920 gr

PS = aus den Bakterien isoliertes Polysaccharid

Darstellung IV:

Die Beziehung zwischen dem Trockengewicht der Bakterien, die mit und ohne Zusatz von Aminfluorid 242 in der Konzentration 10^{-5} M steril filtriert gezüchtet wurden, und dem der von diesen isolierten Polysaccharide.

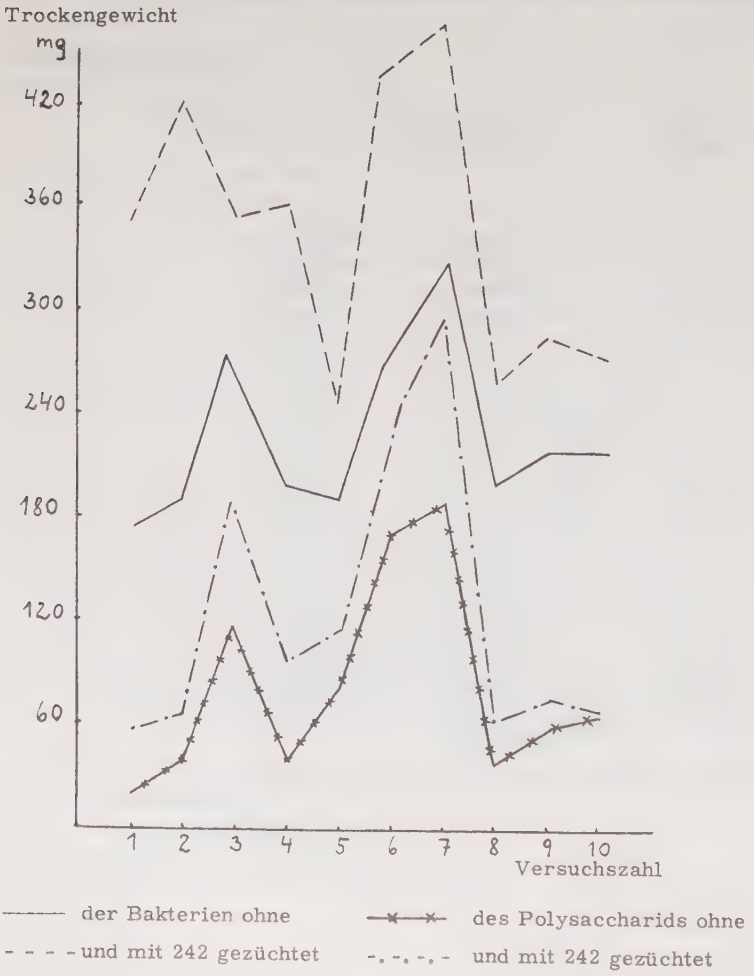


Tabelle VI:

Die Beziehung zwischen Bakterientrockengewicht von Bakterien ohne Fluorzusatz und Bakterien mit 10^{-5} M Aminfluoridlösung 242 steril filtriert gezüchtet und dem Trockengewicht der aus beiden isolierten Polysaccharide.

A ist das Trockengewicht der Bakterien, die ohne Zusatz gezüchtet wurden.

B ist das Trockengewicht der mit Zusatz von 242 10^{-5} M steril filtriert gezüchteten Bakterien.

a ist das Trockengewicht der aus A isolierten Polysaccharide.

b ist das Trockengewicht der aus B isolierten Polysaccharide.

Nr.	B in gr	A in gr	B : A	b in gr	a in gr	b : a
1	0,35869	0,17275	2,07	0,05765	0,01886	3,05
2	0,42265	0,19533	2,16	0,09682	0,04641	2,08
3	0,35294	0,27197	1,29	0,18926	0,11588	1,63
4	0,36180	0,20833	1,73	0,09225	0,04121	2,23
5	0,24770	0,19246	1,28	0,11070	0,10934	1,01
6	0,43608	0,26593	1,63	0,24531	0,17265	1,43
7	0,46518	0,32853	1,41	0,29632	0,19375	1,52
8	0,25967	0,20255	1,28	0,06746	0,04346	1,55
9	0,28608	0,22706	1,25	0,07084	0,05682	1,24
10	0,27285	0,22361	1,22	0,06920	0,06638	1,05

Der Mittelwert B : A ist 1,542, der von b : a beträgt 1,526.

DISKUSSION

BRAMSTEDT und andere (6, 7, 26, 27, 28, 39) messen den polysaccharidbildenden Mikroorganismen der Plaques eine wesentliche Rolle in der Kariespathogenese bei. Die "oral sugar clearance time" des Speichels ist bei den Kariesanfälligen stark verlangsamt, - BRAMSTEDT, NAUJOKS und Mitarbeiter führen dies auf eine verminderte Fermentaktivität des Speichels zurück - es kommt deshalb bei diesen schon normalerweise zu einem vermehrten Angebot an Zuckern an die Mikroorganismen in den Zahnbelägen. Werden nun während des Tages außerhalb der Hauptmahlzeiten niedermolekulare Zucker in klebriger Form eingenommen, steigt, wie es von den Vipeholm-Versuchen (33, 34) her bekannt ist, das Angebot an Zuckern in einem ganz besonders ungünstigen Maße an.

Wie VAN HOUTE (39) feststellen konnte, steigt dadurch gleichzeitig der Anteil der polysaccharidbildenden Mikroorganismen in den Plaques deutlich an. Wird der Zuckergehalt der Nahrung erniedrigt, kommt es zu einer Reduktion derselben. Die intrazellulär gebildeten und gespeicherten Polysaccharide werden in Zeiten verminderten Zuckerangebotes zu Säuren abgebaut. Selbst in Gegenwart eines Puffers mit dem pH-Wert 7, 0 sinkt dieser in den Belägen unter 6, 0 ab. Findet keine Pufferung der Säuren statt, fällt das pH unter 4, 7 ab (53). Zu entsprechenden Ergebnissen kamen EASTOE und BOWEN (21) bei ihren Untersuchungen. Bei Verabreichung von wässriger Saccharoselösung (0, 1 M) konnten sie in den Plaques nach 20 Minuten einen Abfall des pH-Wertes auf durchschnittlich 5, 17 $\pm$ 0, 38 ermitteln. Wurden die Zuckerlösungen in 0, 01 M Phosphatpuffer pH 7 gelöst, trat trotzdem ein immer noch beträchtlicher pH-Abfall auf. Die Untersuchungen wurden an Affen durchgeführt, die auf einer kariogenen Diät gehalten wurden. Zu noch tieferliegenden pH-Werten kam NEFF (61) bei seinen Untersuchungen. Er konnte bei fortlaufenden Messungen an den Zahnober-

flächen nach Verabreichung von gesüßtem Vollkornbrot pH-Werte um 4,0 - 4,3 feststellen.

Der pH-Wert kann sich in den Plaques somit in einem Bereich bewegen, in dem nach ERICSSON der Apatit des Schmelzes durch den Säureangriff angelöst werden kann (24).

Es bieten sich zur Zeit einige Möglichkeiten, um die Polysaccharidsynthese in den Plaques weitgehend auszuschalten. Zunächst scheint es, am einfachsten zu sein, durch gründliche tägliche Zahnpflege die Plaques mit ihren Mikroorganismen zu beseitigen. Diese Maßnahme ist jedoch im höchsten Maß von der Mitarbeit der Einzelnen abhängig und niemals auf Grund der anatomischen Verhältnisse der Mundhöhle von einem hundertprozentigen Erfolg gekrönt. Weit leichter ist es, durch Umstellung der Ernährung, das Angebot von niedermolekularen Zuckern in der Nahrung auf ein Minimum zu reduzieren. Vor allem bei vernünftigen Patienten könnte man erreichen, auf einen zusätzlichen zwischenmahlzeitlichen Konsum von klebrigen Kohlenhydraten zu verzichten. Bei gleichzeitiger Anwendung niedriger Fluordosen, wie BRAMSTEDT, NAUJOKS und Mitarbeiter (12, 13, 14) für in vitro-Bedingungen als möglich nachgewiesen haben, könnte die "oral sugar clearance time" des Speichels verbessert und das Zuckerangebot für die Mikroorganismen der Plaques niedriger gehalten werden.

Nach HARDWICK (36) kommt es gleichzeitig zu einer Fluoridanreicherung in den Zahnbelägen, die zu einer Wachstumshemmung der Plaquemikroorganismen führt. Es konnten Fluoridkonzentrationen von 30 bis 60 ppm von ihm festgestellt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß des Aminfluorids 242 auf das Wachstum und die Polysaccharidsynthese des aus Plaques Kariesanfälligen isolierten Streptokokkenstammes 200 untersucht. Es konnte dabei festgestellt werden, daß dieses Aminfluorid in sehr niedrigen Mengen das Wachstum und damit die Polysaccharidbildung hemmen.

Wurde das Aminfluorid 242 jedoch in der Konzentration von 10^{-5} M steril filtriert, wurde das Wachstum stark gefördert, obwohl es bei der gleichen Konzentration, wenn das Aminfluorid im Autoklaven sterilisiert wurde, zu einer Wachstumshemmung kam.

Die gute antibakterielle Wirkung in vitro, wie sie von MÜHLEMANN und Mitarbeitern angegeben wird (57, 58), zeigte sich in den Versuchungen voll bestätigt. Die obengenannten Ergebnisse können mit denen, die von BRAMSTEDT, NAUJOKS und Mitarbeitern (12, 13, 14) bei Untersuchungen des anaeroben Glukoseabbaues von Streptokokken, Laktobazillen und Candida albicans unter dem Einfluß von Natriumfluorid in den Konzentrationen 10^{-2}, 10^{-3} und 10^{-4} M ermittelt wurden, durchaus verglichen werden. Auffälligerweise zeigt das Aminfluorid 242, wie es schon von MÜHLEMANN und Mitarbeitern (57, 58) angegeben wurde, bei bedeutend niedrigeren Konzentrationen eine den anorganischen Fluoriden entsprechende Wirkung. Bei der Konzentration von 10^{-4} M war das Wachstum und damit die Polysaccharidsynthese vollständig gehemmt. Mit fallender Konzentration nimmt diese Wirkung ab und schlägt bei 10^{-6} M in einen wachstumsfördernden Effekt um. Die Säureproduktion dieses Stammes wird im Gegensatz dazu noch bei einer Konzentration von 10^{-8} M teilweise von den Aminfluoriden im Warburgversuch gehemmt (9).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß das Aminfluorid 242 es ermöglicht, in die Polysaccharidsynthese des Streptokokkenstammes 200, der vermehrt in den Plaques zu finden ist, in sehr niedrigen Dosen von außen wirkungsvoll einzugreifen. Für die Kariesprophylaxe dürften sich die Aminfluoride zum anderen deshalb gut bewähren, weil sie auf Grund ihrer oberflächenaktiven Eigenschaften ein Eindiffundieren von Fluorionen in die Schmelzoberfläche ganz besonders begünstigen könnten.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Das Wachstum des Streptokokkenstammes 200, der aus den Plaques eines kariesanfälligen Probanden isoliert wurde, wurde unter anaeroben Bedingungen dem Einfluß des Aminfluorids 242 in verschiedenen Konzentrationen ausgesetzt.

2. Bei der Konzentration von 10^{-4} M setzte erst nach 36 Stunden Bebrütungszeit, bei 10^{-5} M (heiß sterilisiert) nach 16 Stunden ein Wachstum ein.

3. Durch die Konzentrationen 5×10^{-6} M und 10^{-6} M wird das Wachstum nur ganz unwesentlich beeinflußt.

4. Wurde das Aminfluorid 242 in der Konzentration 10^{-5} M steril filtriert zugegeben, setzte ein verstärktes und deutlich beschleunigtes Wachstum ein.

5. Bei einem Zusatz von kalt sterilisiertem Aminfluorid 242 in der Konzentration von 10^{-5} M, war die Polysaccharidbildung den Wachstumskurven entsprechend vermehrt. Der Vergleich der Bakterientrockengewichte, die dem Wachstum der Bakterien entsprechen, mit den Trockengewichten der isolierten Polysaccharide beweist, daß die Polysaccharidbildung im gleichen Verhältnis wie das Wachstum vermehrt ist.

Herrn Professor Dr. F. Bramstedt erlaube ich mir, für die freundliche Überlassung des Themas, für die ständige Unterstützung während der Abfassung der Arbeit und für die Übernahme des Referates meinen ergebensten Dank auszusprechen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AHRENS, G.: Beziehungen zwischen dem Phosphatgehalt des Speichels und Karies. Arch. oral Biol. 6, 241-248 (1961)

2. AHRENS, G. und B. RANKE: Organische Phosphate im menschlichen Speichel. Arch. oral Biol. Special Supplement 4, 175-178 (1961)

3. ARNOLD, F.A. Jr., F.J. Mc CLURE and C.L. WHITE: The cariesstatus of children, who ingested sodium fluoride tabletts. J. dent. Res. 39, 1118-1119 (1960)

4. BACKER DIRKS O., B. HOUWINK und G.W. KWAUT: The results of 6 1/2 years of artificial fluoridation of drinking water in the Netherlands. Arch. oral Biol. 5, 284-300 (1961)

5. BIBBY, B.G.: Fluoride-Phosphate interrelationship. Caries Symposion Zürich, Verlag Hans Huber, Bern 146-151 (1961)

6. BRAMSTEDT, F.: Neuere Untersuchungen über die Bedeutung der Kohlenhydrate in der Kariesätiologie. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 20, 505-509 (1965)

7. BRAMSTEDT, F.: Biochemestry of dental caries. Intern. Dent. J. 8, 179-182 (1958)

8. BRAMSTEDT, F. und R. NAUJOKS: Biochemische Kariesforschung an der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten Hamburg seit 1949. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 17, 867-880 (1962)

9. BRAMSTEDT, F. und J. BANDILLA: Über den Einfluß organischer Fluorverbindungen auf Säurebildung und Polysaccharidsynthese von Plaques-Streptokokken Dtsch. zahnärztl. Zschr. 21, 1390-1396 (1966)

10. BRAMSTEDT, F. und R. VONDERLINN: Biochemische Speicheluntersuchungen II. Die Sauerstoffaufnahme des Speichels und ihre Beziehung zur Zahnkaries. Zahnärztl. Welt 22, 505-509 (1952)

11. BRAMSTEDT, F. und R. VONDERLINN: Die Biochemie des Speichels in ihrer Beziehung zur Ernährung und Zahnkaries. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 8, 69-71 (1953)

12. BRAMSTEDT, F., A. KRÖNCKE und R. NAUJOKS: Biochemische Untersuchungen zur Fluorwirkung im Speichel kariesanfälliger und kariesresistenter Personen. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 10, 311-313 (1955)

13. BRAMSTEDT, F., A. KRÖNCKE und R. NAUJOKS: Über den Einfluß von Fluor auf den Glukoseabbau isolierter Mundbakterienstämme. Odont. Revy 8, 355-360 (1957)

14. BRAMSTEDT, F., A. KRÖNCKE und R. NAUJOKS: The physiological effect of low doses of fluorine. J. Dent. Belge 6, 373-390 (1958)

15. BRAMSTEDT, F., R. NAUJOKS und I. BENEDIKT: Oral sugar clearance und Fermentaktivitäten im menschlichen Speichel. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 18, 242-248 (1963)

16. BRAMSTEDT, F., R. NAUJOKS und I. BENEDIKT: Über die Natur der von Streptokokken synthetisierten Polysaccharide. Advances in Fluorine Research and Dental Caries Prevention. Pergamon, Oxford 3, 179-186 (1965)

17. BRAMSTEDT, F., A. KRÖNCKE, R. NAUJOKS und R. VONDERLINN: Die Verbrennung organischer Substrate im Speichel kariesresistenter und kariesanfälliger Personen. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 9, 782-791 (1954)

18. BUTTNER, W. and J. C. MUHLER: Effects of salivary fluoride on enamel solubility. J. Dent. Res. 4, 617-623 (1962)

19. DAWES, C.: Is acid-precipitation of salivary proteins a factor in plaque formation? Arch. oral Biol. 9, 375-376 (1964)

20. DEAN, H. T.: Fluorine in the control of dental caries. Internat. Dent. J. 4, 311-337 (1953)

21. EASTOE, J.E. and W.H. BOWEN: The effect of sugar solutions containing various ions on the pH of plaque in monkeys. Abstracts of Papers. ORCA CONGRESS, Perugia 14-15 (1966)

22. EGGERS-LURA, H.: Investigations into the oxydation-reduction potentials of saliva from caries-resistant and caries-susceptible persons. J. Dent. Res. 34, 752 (1955)

23. ENGLANDER, H.R., J.L. SHKLAIR und L.S. FOSDICK: The effects of saliva on the pH and lactate concentration in dental plaques. J. Dent. Res. 38, 848-853 (1959)

24. ERICSSON, Y.: Die Beziehung zwischen Speichel und Karies. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 16, 164-170 (1961)

25. FITZGERALD, J.R. and P.H. KEYES: Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. J. Amer. Dent. Ass. 61, 9-19 (1960)

26. GIBBONS, J.R.: Bacteriology of dental caries. J. Dent. Res. 43, 1021-1028 (1964)

27. GIBBONS, J.R. and S.S. SOCRANSKY: Intracellular polysaccharide storage by organisms in dental plaques. Arch. oral Biol. 7, 73-79 (1962)

28. GIBBONS, J.R., S.S. SOCRANSKY and J.B. MACDONALD: Polysaccharide storage by the oral microbiota. J. Dent. Res. 40, 666 (1961)

29. GIBBONS, J.R., B. KAPSIMALIS and S.S. SOCRANSKY: The source of salivary bacteria. Arch. oral Biol. 9, 101-103 (1964)

30. GIBBONS, J.R., S.S. SOCRANSKY, W.C. de ARANJO and J. van HOUTE: Studies of the predominant cultivable microbiota of dental plaque. Arch. oral Biol. 9, 365-370 (1964)

31. GREEN, G.E.: A bacteriolytic agent in salivary globulin of cariesimmune human beings. J. Dent. Res. 38, 262-275 (1959)

32. GREEN, G.E. and Salivary and plaque lactobacilli in the prognosis of human dental caries. J. Dent. Res. 38, 951-960 (1959)

33. GUSTAFSSON, B.E.: The Vipeholm dental caries study; survey of the literature on carbohydrates and dental caries. Acta Odont. Scand. 11, 207-231 (1954)

34. GUSTAFSSON, B.E., C.E. QUENSEL, L.S. LANKE, C. LUNDQUIST, H. GRAHNEN, B.E. BONOW and B. KRASSE: The Vipeholm dental caries study; the effect of different levels of carbohydrate intake on cariesactivity in 436 individuals observed for five years. Acta Odont. Scand. 11, 232-364 (1954)

35. HANSON, H.: Zusammensetzung und Funktion des Speichels. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 19, 143-152 (1961)

36. HARDWICK, J.L.: The fluoride content of the plaque: its possible anti-enzymatic action. Caries Symposion Zürich, Verlag Hans Huber, Bern 112-117 (1961)

37. HEWAT, R.E.T. and F.B. RICE: Control of dental caries by topical applications of sodium fluoride. Experimental study on 97 children in Wellington. N. Zeal. Dent. J. 45, 215-219 (1949)

38. HOFFMANN-AXTHELM, W.: Acht Jahre Statistik in einem endemischen Fluorgebiet. Arch. oral Biol. 6, 12-16 (1961)

39. HOUTE van J.: Relationship between carbohydrate intake and polysaccharide-storing micro-organisms in dental plaque. Arch. oral Biol. 9, 91-93 (1964)

40. HUH, C., R.Q. BLACKWELL and L.S. FOSDICK: The diffusion of glucose through microbial plaques. J. Dent. Res. 38, 569-576 (1959)

41. JENKINS, G.N.: Theories on the mode of action of fluoride in reducing dental decay. J. Dent. Res. 42, 444-452 (1963)

42. KAMRIN, B.B.: The effects of high carbohydrate diet on the teeth of parabiosed albino rats. J. Dent. Res. 34, 175-180 (1954)

43. KEYES, P.H.: The infections and transmissible nature of experimental dental caries. Arch. oral Biol. 1, 304-320 (1960)

44. KEYES, P.H.: Recent advantages in dental caries research. Bacteriological findings and biological implications. Internat. Dent. J. 12, 434-464 (1962)

45. KITE, O.W., J.H. SHAW and R.F. SOGNNAES: The prevention of experimental tooth decay by tube-feeding. J. Nutrit. 42, 89-103 (1950)

46. KRASSE, B.: Recent advantage in dental caries research. Bacteriology. Formation of plaques. Internat. Dent. J. 12, 465-475 (1962)

47. KRASSE, B.: The relationship between lactobacilli, Candida and streptococci and dentak caries. Examination of saliva and plaque material collected on same occasion. Odont. Revy 5, 241-261 (1954)

48. KRÖNCKE, A.: In vivo effects of an aminefluoride containing dentrifice on saliva properties. Caries Symposion Zürich, Verlag Hans Huber, Bern 14-24 (1961)

49. KRÖNCKE, A. und C. LÄSSIG: Amylaseaktivität und Atmung des menschlichen Speichels. Arch. oral Biol. 5, 31-37 (1961)

50. LUNDQVIST, C.: Oral sugar clearance; its influence on dental caries activity. Odont. Revy 3 Suppl. 1, 121 (1952)

51. MAC GREGOR, A.B.: Increasing caries incidence and changing diet in Ghana. Internat. Dent. J. 13, 516-522 (1963)

52. MAHLER, I.R. and R.S. MANLY: The pH levels attained by compact layers of oral microorganisms in contact with glucose solutions. J. Dent. Res. 35, 226-232 (1956)

53. MARTHALER, T.M.: The cariostatic effect of aminefluoride containing dentrifice in an unsupervised clinical study. Caries Symposion Zürich, Verlag Hans Huber, Bern 14-24 (1961)

54. MARTHALER, T.M.: Die Wirksamkeit aminfluoridhaltiger Zahnpasten auf den Karieszuwachs von Kindern während 18 Monaten unüberwachten Gebrauches. Schweiz. Mschr. Zahnhk. 72, 2-26 (1962)

55. MOORE, B.W., W.M.J. CARTER, J.K. DUNN and L.S. FOSDICK: The formation of lactic acid in dental plaques. 1. Caries-active individuals. J. Dent. Res. 35, 778-785 (1956)

56. MUHLER, J.C.: The combined anticatiogenic effect of a single stannous fluoride solution and the unsupervised use of a stannous fluoride-containing dentrifice. J. Dent. Res. 38, 994-997 (1959)

57. MÜHLEMANN, H.R. und K.G. KÖNIG: The effect of placebo dentrifices and of storage of fluorine-containing dentrifices on experimental rat caries. Caries Symposion Zürich, Verlag Hans Huber, Bern 133-140 (1961)

58. MÜHLEMANN, H.R., K.G. KÖNIG, T.M. MARTHALER, A. SCHEUT und H. SCHMID: Organische Fluoride. Schweiz. Mschr. 70, 1037-1056 (1960)

59. NAUJOKS, R.: Biochemische Aspekte der Kariesätiologie. Zahnärztl. Praxis XV/6 (1964)

60. NAJOKS, R., F. BRAMSTEDT, E. RANKE und A. KRÖNCKE: Beziehung zwischen der Aldolaseaktivität des Speichels und der Karies. Arch. oral Biol. Special Suppl. 4, 179-186 (1961)

61. NEFF, D.: Acid production from different carbohydrate sources in human plaque in situ. ORCA CONGRESS, Perugia, Abstracts of Papers, 77-78 (1966)

62. NEUBAUER, T. und R. NAUJOKS: Über die Spaltung von Saccharose und Maltose im menschlichen Speichel. Arch. oral Biol. 6, 221-227 (1961)

63. ORLAND, F. J., J. R. BLAYNEY and R. W. HARISON: Use of germfree animal technik in the study of experimental dental caries. J. Dent. Res. 33, 147-174 (1954)

64. ORLAND, F. J., J. R. BLAYNEY, R. W. HARRISON, J. A. REYNIERS, Ph. C. TREXLER, R. F. ERVIN, H. A. GORDON and M. WAGNER: Experimental caries in germfree rats inoculated with enterococci. J. Amer. Dent. Ass. 50, 259-272 (1955)

65. PEDERSEN, P. O.: Ernährung und Zahnkaries primitiver und urbanisierter Grönländer. Dtsch. Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde 6, 728-734 (1939)

66. PFLÜGER, E. F. W.: Das Glykogen 2. Aufl. Bonn 1905

67. PU, M. Y. and B. LILIENTHAL: Dental caries and mottled enamel among formosan children. Arch. oral Biol. 5, 125-136 (1961)

68. RANKE, E. und B. RANKE: Über den Sediment- und Proteingehalt des Speichels kariesanfälliger und kariesresistenter Personen. Arch. oral Biol. 6, 234-240 (1961)

69. ROSEN, S. and P. R. WEISENSTEIN: The effect of sugar solutions on pH of dental plaques from caries-susceptible and caries free individuals. J. Dent. Res. 44, 845-849 (1965)

70. SHAW, J.H.: Nutrition and dental caries. Federation Proc. 8, 536-545 (1949)

71. STEPHAN, R.M.: The dental plaque in relation to the etiology of caries. Internat. Dent. J. 4, 180-195 (1953)

72. TOVERUD, G.: Dental studies in Norwegian children during and after the second World War. J. Dent. Res. 28, 641 (1949)

73. TOVERUD, G.: Dental caries in Norwegian children during and after the second World War. J. Amer. DentAss. 26, 673-680 (1950)

74. TRAUTZ, O.R. and R.R. ZAPANTA: Experiments with calcium carbonate phosphates and the effect of topical application of sodium fluoride. Arch. oral Biol. 4, 122-133 (1961)

75. TRAUTNER, K.H.: Der Glykogenhaushalt der marinen Knochenfische, am Beispiel der Flunder (Pleuronectes flesus L.) untersucht. Inaug. Diss. Kiel (1962)

76. WANDELT, S.: Bakteriologische und histochemische Untersuchungen an Plaques von Kariesaktiven und Kariesresistenten. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 16, 299-302 (1961)

77. WINKLER, K.C. and O. BACHER DIRKS: The mechanism of dental plaque. Internat. Dent. J. 8, 561-585 (1958)

78. YARDENI, J., D. SULITZEANU and N. CITRI: Salivary and plaque lactobacilli in the prognosis of human dental caries. J. Dent. Res. 38, 951-960 (1959)

Lebenslauf

Am 4. März 1939 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Theodor Konrad und seiner Ehefrau Sabine, geb. Wehr, in Dettelbach, Kreis Kitzingen, geboren.

Von 1945 bis 1949 besuchte ich die Volksschule in Dettelbach, anschließend das humanistische Gymnasium in Dinkelsbühl bis 1955. Im September 1955 wechselte ich an das Alte Gymnasium Würzburg über und legte hier im Juni 1958 die Reifeprüfung ab. Im Wintersemester 1958/59 begann ich an der Universität Würzburg mit dem Studium der Zahnheilkunde. Im Oktober 1961 legte ich dann die zahnärztliche Vorprüfung ab. Mit der zahnärztlichen Prüfung beendigte ich am 6. 10. 1964 mein Studium in Würzburg.
Vom 1. November 1964 bis zum 31. März 1967 war ich als Assistent in der Prothetischen Abteilungder Universitätszahnklinik tätig. Ab 1. April 1967 bin ich bei Herrn Dr. R. Behr, Würzburg tätig und möchte mich im Juli in Dettelbach niederlassen.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner Seite ein Dissertationsthema erhalten habe.

Friedel Hans Konrad

OFFSETDRUCK GUGEL

Würzburg, Burkarderstr. 9

OFFSETDRUCK GUGEL

Würzburg, Burkarderstr. 9